

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number : 59-133454

(43) Date of publication of application : 31.07.1984

(51) Int.Cl. G01N 27/30

C12Q 1/02

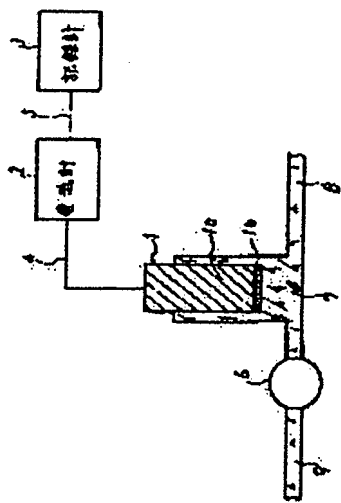
G01N 27/46

G01N 33/18

(21) Application number : 58-009136 (71) Applicant : MITSUBISHI
ELECTRIC
CORP

(22) Date of filing : 20.01.1983 (72) Inventor : OGURA
AKIYOSHI
SHIONO
SATORU
HANASATO
YOSHIO
ISODA
SATORU

(54) BOD SENSOR



(57) Abstract:

PURPOSE: To obtain a BOD sensor not affected by dissolved oxygen by attaching a

microorganism-immobilized film for producing org. acid to a hydrogen ion- sensing element.

CONSTITUTION: A BOD sensor 1 consists of a pH-ISFET 1a functioning as a hydrogen ion-sensing element and an anaerobic

microorganism-immobilized film 1b for producing org. acid in which

K-carragheenan is used. When a

buffer solution for washing is introduced to the sensor 1 by a pump 6, since org. substances transformable by microorganisms are not contained in said buffer solution, the microorganisms in said film 1b do not bring the organic acid out of the bodies and indicate pH value of said buffer solution. Meanwhile, when a sample solution contg. transformable by org. substances is introduced, said substances are transformed by microorganisms in said film 1b, org. acids are brought out of the bodies, and the pH-ISFET 1a indicates less pH. Consequently, BOD is measured by the reduced value of pH.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application]

converted registration]

[Date of final disposal for
application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against
examiner's decision of
rejection]

[Date of requesting appeal
against examiner's decision of
rejection]

[Date of extinction of right]

⑬ 日本国特許庁 (JP)

⑭ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭59—133454

⑮ Int. Cl.³

識別記号

庁内整理番号

⑯ 公開 昭和59年(1984)7月31日

G 01 N 27/30

E 7363—2G

C 12 Q 1/02

8213—4B

G 01 N 27/46

B 7363—2G

33/18

6514—2G

発明の数 2

審査請求 未請求

(全 7 頁)

⑰ BOD センサ

⑱ 発 明 者 花里善夫

尼崎市塚口本町8丁目1番1号

三菱電機株式会社中央研究所内

⑲ 特 願 昭58—9136

⑳ 出 願 昭58(1983)1月20日

㉑ 発 明 者 磯田悟

尼崎市塚口本町8丁目1番1号

三菱電機株式会社中央研究所内

㉒ 発 明 者 小椋明美

尼崎市塚口本町8丁目1番1号

三菱電機株式会社中央研究所内

㉓ 出 願 人 三菱電機株式会社

東京都千代田区丸の内2丁目2

番3号

㉔ 発 明 者 塩野悟

尼崎市塚口本町8丁目1番1号

三菱電機株式会社中央研究所内

㉕ 代 理 人 弁理士 大岩増雄

明 細 書

1. 発明の名称

BOD センサ

2. 特許請求の範囲

(1) 水素イオン感応素子、およびこの水素イオン感応素子に装着した、水中の有機物を酸化して有機酸を生成する有機酸生成微生物固定化膜を備え、生成有機酸量を上記水素イオン感応素子で測定することによりBODを測定するようにしたBODセンサ。

(2) 水素イオン感応素子が水素イオン感応性電界効果型トランジスタである特許請求の範囲第1項記載のBODセンサ。

(3) 固定化微生物に用いる微生物がクロストリデイウム ブチリカム、ラクトバチラス デルブツキ、ストレプトコッカス ミュータンス、エスシエリシア コリの内の少なくとも一種である特許請求の範囲第1項又は第2項記載のBODセンサ。

(4) 微生物の固定化担体が、E-カラギーナンである特許請求の範囲第1項ないし第3項のいず

れかに記載のBODセンサ。

(5) 一對の水素イオン感応素子、その内の一方に装着した水中の有機物を酸化して有機酸を生成する有機酸生成微生物固定化膜、および上記水素イオン感応素子からの検出値から生成有機酸量を演算する装置を備えたBODセンサ。

(6) 水素イオン感応素子が水素イオン感応性電界効果型トランジスタである特許請求の範囲第5項記載のBODセンサ。

(7) 固定化微生物に用いる微生物が、クロストリデイウム ブチリカム、ラクトバチラス デルブツキ、ストレプトコッカス ミュータンス、エスシエリシア コリの内の少なくとも一種である特許請求の範囲第5項又は第6項記載のBODセンサ。

(8) 微生物の固定化担体が、E-カラギーナンである特許請求の範囲第5項ないし第7項のいずれかに記載のBODセンサ。

(9) 演算装置が、基準電位電極を有し、この基準電位電極の電位に対する両水素感応素子の電位

差により生成有機酸量を演算するようにした特許請求の範囲第5項ないし第8項のいずれかに記載のBODセンサ。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、水質汚濁の指標である微生物質化性有機酸の濃度を測定するBODセンサに関するものである。

なお、BODは生物学的酸素要求量の略である。

BODの公定試験法は現在日本工業規格(JIS K0102-1972)に定められているが、これは測定に長時間を要し、かつ操作も煩雑であつて以前から簡便迅速BOD測定装置の開発が強く要望されてきた。特開昭54-47699や特開昭52-89887等には、水中溶存酸素電極と固定化微生物を組合せた簡便迅速BOD測定装置が提案されている。この測定装置では、固定化微生物に用いる微生物としては有機物の質化に伴つて酸素を消費する好気性微生物が用いられていた。

第1図にこの方式のBOD測定装置の構成を図示する。(1)はBODセンサであり、水中溶存酸素電極

(8)

線関係にあるのでBODの測定が可能である。

このような動作機構に基づくため、このBOD測定装置は迅速簡便なBOD測定を可能とし、装置を自動化することも比較的容易であるという特徴をもっている。

しかしながら、このBOD測定装置は水中溶存酸素電極を用いているために、10～100nAレベルの極微量の出力電流の信号処理回路が必要であり、又試料溶液と洗浄用緩衝液中の溶存酸素濃度を一定に保つ必要があり、さらに試料溶液中の塩素イオン濃度の影響を受けるなどの欠点があつた。

本発明は上記のような従来のものの欠点を除去するためになされたもので、水系イオン感応素子に、水中の有機物を質化して有機酸を生成する有機酸生成微生物固定化膜を装着し、生成有機酸量を上記水系イオン感応素子で測定することにより、信号処理が容易で、溶存酸素濃度の影響を受けないBODセンサを得ることを目的とするものである。

本発明の水系イオン感応素子としては、例えば水系イオン感応性電界効果型トランジスタ(以後

(6)

(1a)と固定化微生物膜(1b)とからなる。(2)はBODセンサ(1)からの出力を増幅する微小電流計であり、(3)は記録計である。(4)、(5)はリード線である。(7)は測定用セルであり、試料溶液や洗浄用緩衝液が導入される。(8)はポンプであり、導入管(9)より測定用セル(7)に試料溶液や洗浄用緩衝液を導入する。(10)は排水管である。

従来のBOD測定装置は上記のように構成され、一定の溶存酸素濃度の洗浄用緩衝液をポンプ(8)で測定用セルに導入すると、洗浄用緩衝液には微生物質化性有機物が含まれないために固定化微生物膜(1b)中の微生物は溶存酸素を消費せず、水中溶存酸素電極(1a)は洗浄用緩衝液の溶存酸素濃度を指示する。一方、一定の溶存酸素濃度の測定セル内に、質化性有機物を含む試料溶液を導入すると質化性有機物の代謝に伴つて固定化微生物膜(1b)内の微生物は溶存酸素を消費し、水中溶存酸素電極(1a)の指示する溶存酸素濃度は試料溶液中のそれより小さい値となる。この溶存酸素濃度の減少量が微生物質化性有機酸の濃度すなわちBODと直

(4)

PH-ISEPTと略す)および水系イオン感応性ガラス電極等を用いることができる。

又、上記水系イオン感応素子に装着する有機酸生成微生物固定化膜の有機酸生成微生物としては、例えばクロストリデイウム ブチリカム(*Clostridium butyricum*)、ラクトバチラス デルブツキ(*Lactobacillus delbrueckii*)、ストレプトコッカス ミュータンス(*Streptococcus mutans*)、およびエスキエリシア コリ(*Escherichia coli*)等の嫌気性微生物並びに好気性微生物が用いられる。

微生物の固定化として、まず、糖類、タンパク質等の有機物を質化して有機酸を体外に出す上記有機酸生成微生物を常法に従つて純粋培養したそれぞれの菌体の懸濁液から菌体を回収し、 κ -カラギーナン固定化法を用いて有機酸生成微生物固定化膜を水系イオン感応素子の感応部に装着する。1.67% κ -カラギーナゲル1mLに対し、菌体重量200mgの菌体を均一に混合させ、固まつたのち膜の厚さが0.5mm以下になるように切断し水系イオン感応素子に装着する。

(8)

第2図は本発明の一実施例のBODセンサによるBOD測定装置の構成図であり、これは前記従来のBODセンサに類似しているが、図において、(2)~(9)は第1図と全く同一であり、(1)はBODセンサで、その(1a)は水素イオン感応素子としてのPH-ISFET、(1b)はK-カラギーナンを用いた有機酸生成嫌気性微生物固定化膜である。

上記のように構成されたBOD測定装置は、前記従来のBOD測定装置の動作機構と同様、洗浄用緩衝液をポンプ(6)で測定セルに導入すると、洗浄用緩衝液には微生物質化性有機物が含まれないために固定化微生物膜(1b)中の微生物は有機酸を体外に出さず、PH-ISFET(1a)は洗浄用緩衝液のPHを指示する。一方、一定のPHの測定セル内に、質化性有機物を含む試料溶液を導入すると、質化性有機物を固定化微生物膜(1b)内の微生物が質化し、有機酸を体外に出すようになり、PH-ISFET(1a)の指示するPHは試料溶液中のそれより小さい値となる。このPHの減少量が微生物質化有機物の濃度、即ちBODと直線関係にあるのでBODの測定が可能

(7)

で、図は排水パイプ、(2)、(3)、(4)はリード線である。

まず、バルブ(8)を $5 \times 10^{-3} M$ の濃度でpH7.0の洗浄用緩衝液をポンプ(6)に送る側にし、洗浄用緩衝液を測定セル(4)に流す。この洗浄用緩衝液には質化性有機物が含まれていないため、(10b)内の微生物は活動せず、有機酸を体外に出さない。このため、PH-ISFET感応部のPHは、洗浄用緩衝液のPHと同じとなり、もう一方のPH-ISFET感応部のPHとも同一となるため、2個のPH-ISFETの出力の間に差が生じず、一定のベースラインを与える。次いで、バルブ(8)を操作して $5 \times 10^{-3} M$ の緩衝液をもつ試料溶液を測定セルに送液すると、試料溶液中の質化性有機物を有機酸生成微生物固定化膜(10b)内の微生物が質化し、有機酸を体外に出すようになる。このため微生物固定化膜を被覆したPH-ISFETと被覆しないPH-ISFETの感応部周辺のPHとの差が生じるようになる。従つて、試料溶液が送られるとともに2個のPH-ISFET間の出力に差が生じる。この出力の差を電気回路(11)で増幅し、記録

(8)

となり、又、有機酸を検知対象としているため水中の溶解酸素の影響を受けることがない。

第3図は、本発明の他の実施例のBODセンサによるBOD測定装置の構成図、第4図は、第3図中のBODセンサの詳細断面図である。

図において、図はBODセンサ、(10a)はPH-ISFET、(10b)はK-カラギーナンを用いた有機酸生成微生物固定化膜、(10c)は2個のPH-ISFETの電位を一定に保つ基準電位電極で、白金、金等の金属性円板で構成される。(10e)、(10f)、(10g)はリード線、(10d)はプラスナック等で作ったセンサ支持棒である。(11)はBODセンサ(4)の信号処理、即ち演算処理とバルブ(8)の制御を行う電気回路で、基準電位電極(10c)と合わせて演算装置を構成する。12は記録計、13は試料溶液や洗浄用緩衝液の温度や測定セル(4)の温度を一定ならしめるための恒温槽、14は試料溶液や洗浄用緩衝液を送るためのポンプ、15は試料溶液と洗浄用緩衝液のいずれかをポンプ(15)に送るためのバルブ、16、17はパイプ、18は試料溶液を導くパイプ、19は洗浄用緩衝液を導くパイ

(9)

プ、12は記録させる。前記JISで定められているBOD 220ppmの標準BOD水(160mg グルコース + 160mg グルタミン酸/L)を試料溶液とした場合のBODセンサの出力の例を第5図に示す。ポンプ(15)の送液速度は3mL/min、恒温槽13の温度は37℃で、固定化した微生物はLactobacillus delbrueckiiであつた。試料溶液は、第5図で時間2minのところ(A)から7minのところ(B)まで測定セルに送液するようにし、それ以外は洗浄用緩衝液を送液した。

第6図を説明する。上記した如く時間0minから2minまでの洗浄用緩衝液を測定セルに送液している間はBODセンサの出力は0mVと一定であるが、時間2min以降7minまでの試料溶液送液時間(5min)ではBODセンサの出力は固定化微生物による有機物の質化に伴つて生成する有機酸によつて単調に増大する。時間7min以降は洗浄用緩衝液が測定セルに入ってくるため再び微生物固定化膜内のPHが上昇しはじめBODセンサの出力は減少し、時間17min程度で0mVとなつて以後一定のベースラインを与える。

(10)

0～800ppmのBOD値をもつ試料溶液を調製し、第6図の測定例と同一条件（試料溶液送液時間はいずれも5minとした）で、BODセンサの出力を記録し、BODセンサ出力のピーク高さとBOD値の間の関係を求めたところ、第6図に示す如く、0～600ppmのBOD値まで直線関係が認められた。繰返し再現性は、0～600ppmのBOD値に対しいずれも変動係数2%以下であつた。さらに実排水を用いて、JIS公定試験法と比較したところ、JIS公定試験法の測定値83ppmと本実施例での測定値80ppmの間には5%以上の開きはなかつた。また、溶存酸素濃度の影響は皆無であること、塩素イオン濃度の影響を調べる目的で、NaOClを1M添加しても殆んど影響が生じないことを確認した。

さらに従来用いられていたポリアクリルアミド固定化法に比較して、本発明で用いたκ-カラギナン固定化法ではBODセンサの寿命が長期間維持されることもわかつた。これを第7図に示す。(a)はポリアクリルアミド固定化法、(b)はκ-カラギナン固定化法による場合を示す。標準BOD水

を試料溶液として4min間送液したときの出力のピーク高さの経時変化を両固定化法を用いて比較した結果である。κ-カラギナン固定化法を用いたBODセンサでは感度が良好な上、安定な応答が1ヶ月間維持された。

以上説明したとおり、本発明は水素イオン感応素子に水中の有機物を酸化して有機酸を生成する有機酸生成微生物固定化膜を装着一し、生成有機酸量を上記水素イオン感応素子で測定することにより、信号処理が容易で、溶存酸素濃度の影響を受けないBODセンサを得ることができる。

又、一対の水素イオン感応素子の内の一方に水中の有機物を酸化して有機酸を生成する有機酸生成微生物固定化膜を装着一し、上記両水素イオン感応素子からの検出値から生成有機酸量を演算する装置を備え、さらに演算装置が基準電位電極を有し、この基準電位電極の電位に対する両水素感応素子の電位差により生成有機酸量を演算するようにすれば、信号処理が容易で、溶存酸素濃度や塩素イオン濃度の影響を受けないBODセンサを得る

(11)

02

ことができる。

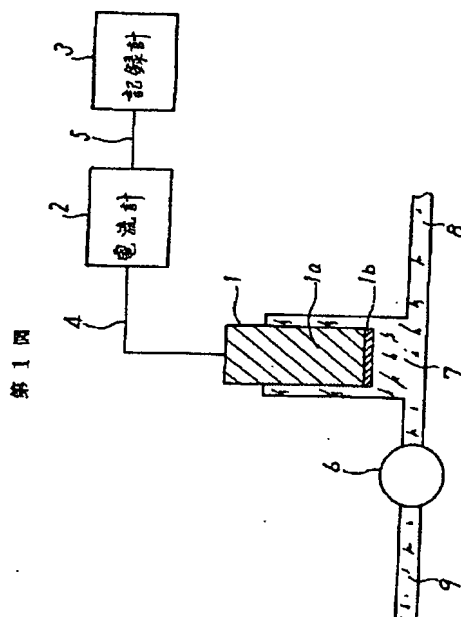
4. 図面の簡単な説明

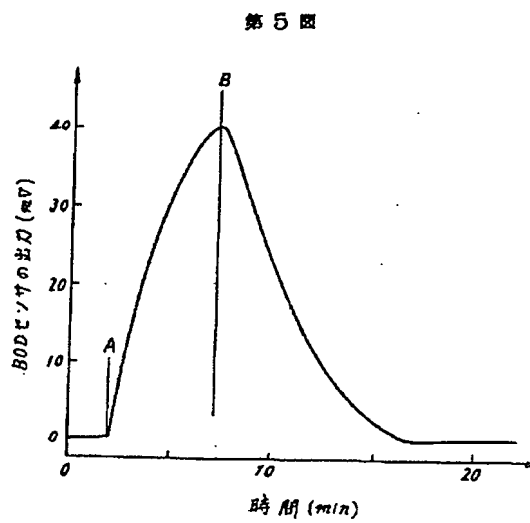
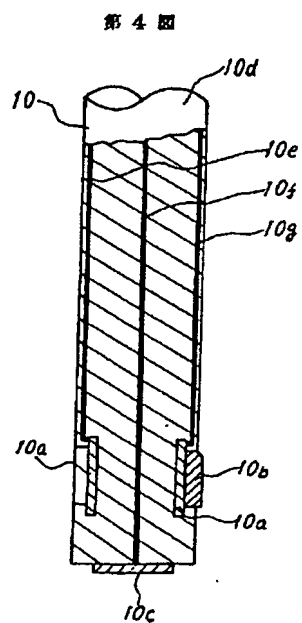
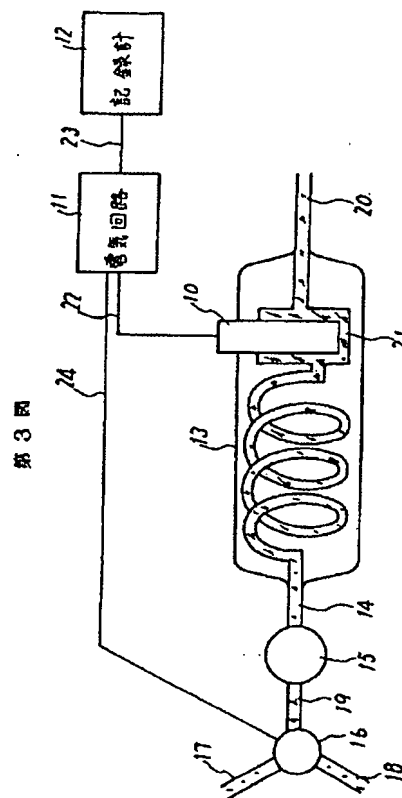
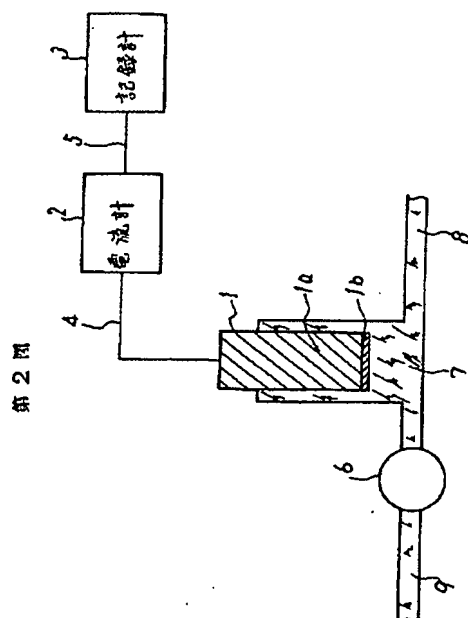
第1図は従来のBOD測定装置を示す構成図、第2図は本発明の一実施例のBODセンサを用いたBOD測定装置を示す構成図、第3図は本発明の他の実施例のBODセンサを用いたBOD測定装置を示す構成図、第4図は第3図に用いたBODセンサの詳細断面図、第5図および第6図はそれぞれ本発明の第3図のBOD測定装置の測定結果を示す測定図、およびBOD測定の検量線図、第7図は本発明の実施例によるBODセンサの安定性図である。

図において、(1)、(2)はBODセンサ、(1a)、(10a)は水素イオン感応素子、(1b)、(10b)は有機酸生成微生物固定化膜、(10c)は基準電位電極、(11)は電気回路で基準電位電極と合わせて演算装置を構成する。

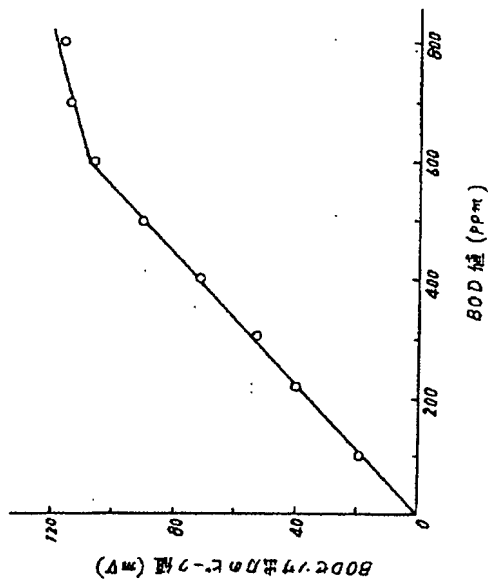
なお、各図中同一符号は同一または相当部分を示す。

代理人 葛野 信一

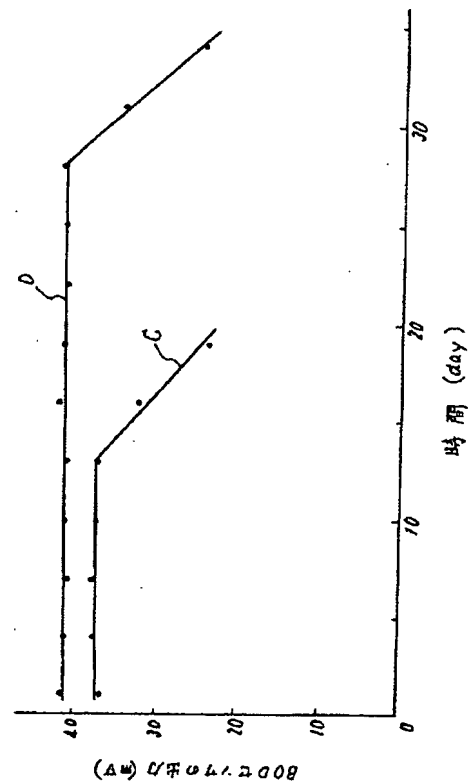




第6図



第7図



手続補正書(自発)
昭和 58 年 月 17 日

特許庁長官殿

1. 事件の表示 特願昭 58-9186 号

2. 発明の名称
BOD センサ

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人
住 所 東京都千代田区丸の内二丁目2番3号
名 称 (601)三菱電機株式会社
代表者 片 山 仁 八 郎

4. 代 理 人

住 所 東京都千代田区丸の内二丁目2番3号
三菱電機株式会社内
氏 名 (7375)弁理士 大 岩 増 雄
(特許代 03/213)4/21(特許部)

5. 補正の対象

明細書の特許請求の範囲および発明の詳細な説明の概

6. 補正の内容

(1) 明細書の特許請求の範囲を別紙のとおり訂正する。

(2) 同第5頁第14行の「質化」を「変化」に訂正する。

(3) 同第6頁第14行～第15行および第17行、第7頁第8行、第8頁第7行、第11頁第16行～第17行、並びに第12頁第8行の「K-カラギーナン」をそれぞれ「X-カラギーナン」に訂正する。

7. 添付書類の目録

補正後の特許請求の範囲を記載した書面 1 通
以 上

特許請求の範囲

(1) 水素イオン感受素子、およびこの水素イオン感受素子に装着した、水中の有機物を酸化して有機酸を生成する有機酸生成微生物固定化膜を備え、生成有機酸量を上記水素イオン感受素子で測定することによりBODを測定するようにしたBODセンサ。

(2) 水素イオン感受素子が水素イオン感受性電界効果型トランジスタである特許請求の範囲第1項記載のBODセンサ。

(3) 固定化微生物に用いる微生物がクロストリディウム プテリカム、ラクトバチラス デルブツキ、ストレプトコッカス ミュータンス、エシエリシア コリの内の少なくとも一種である特許請求の範囲第1項又は第2項記載のBODセンサ。

(4) 微生物の固定化担体が、γ-カラギーナンである特許請求の範囲第1項ないし第3項のいずれかに記載のBODセンサ。

(5) 一対の水素イオン感受素子、その内の一方に装着した水中の有機物を酸化して有機酸を生成す

る有機酸生成微生物固定化膜、および上記両水素イオン感受素子からの検出値から生成有機酸量を演算する装置を備えたBODセンサ。

(6) 水素イオン感受素子が水素イオン感受性電界効果型トランジスタである特許請求の範囲第5項記載のBODセンサ。

(7) 固定化微生物に用いる微生物が、クロストリディウム プテリカム、ラクトバチラス デルブツキ、ストレプトコッカス ミュータンス、エシエリシア コリの内の少なくとも一種である特許請求の範囲第5項又は第6項記載のBODセンサ。

(8) 微生物の固定化担体が、γ-カラギーナンである特許請求の範囲第5項ないし第7項のいずれかに記載のBODセンサ。

(9) 演算装置が、基準電位電極を有し、この基準電位電極の電位に対する両水素感受素子の電位差により生成有機酸量を演算するようにした特許請求の範囲第5項ないし第8項のいずれかに記載のBODセンサ。